

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1929

N° _____

THÈSE

43

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1929

PAR

Paul-Alfred BULLIER

Né à Saint-Brieuc, le 1^{er} septembre 1904

RECHERCHE DES SENSIBILISATRICES

DANS LE

SÉRUM DES CHIENS

ATTEINTS DE MALADIE

DU JEUNE AGE

JURY { *Président* : M. LEMIERRE, Professeur à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs* { M. ROBIN } Professeurs à l'École Nationale Vété-
 { M. VALLÉE } rinaire d'Alfort.

PARIS

LIBRAIRIE LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1929

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1929

N° 43

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1929

PAR

Paul-Alfred BULLIER

Né à Saint-Brieuc, le 1^{er} septembre 1904

RECHERCHE DES SENSIBILISATRICES

DANS LE

SÉRUM DES CHIENS

ATTEINTS DE MALADIE

DU JEUNE AGE

JURY { *Président* : M. LEMIERRE, Professeur à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs* { M. ROBIN } Professeurs à l'École Nationale Vété-
 { M. VALLÉE } rinaire d'Alfort.

PARIS

LIBRAIRIE LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1929

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires: MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE.

Directeur : M. E. NICOLAS.

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire
des Écoles Vétérinaires, P.-J. CADIOT, A. RAILLIET, H. VALLÉE.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques	BRESSOU.
Physiologie, Thérapeutique générale.	MAIGNON.
Physique & Chimie médicales, Toxicologie, Pharmacie	NICOLAS.
Parasitologie et Maladies parasitaires, Clinique ; Zoologie	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, Clinique ; Sémiologie et Propédeutique, Jurisprudence.	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, Clinique ; Anatomie chirurgicale, Médecine opératoire et Ferrure	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, Clinique ; Médecine opératoire, Obstétrique	MOUSSU.
Pathologie générale et Microbiologie, Maladies microbiennes et Police sanitaire, Clinique	PANISSET.
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique ; Autopsies.	PETIT.
Zootéchnie et Economie rurale.	DECHAMBRE.
Agronomie, Botanique et Hygiène ; Matière médicale	{ HENRY.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale.	VERGE.



AGRÉGÉS

MM. LESBOUYRIES - VERGE.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. DELMER.
LESBOUYRIES.

MM. MONVOISIN.
MOUSSU (R.).

M. VERGE.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.

A MON PÈRE. A MA MÈRE

A MON FRÈRE

A MA SŒUR

A TOUS MES PARENTS ET AMIS

A MONSIEUR LEMIERRE

Professeur de Bactériologie
à la Faculté de Médecine de Paris

*Pour le très grand honneur qu'il
nous fait d'accepter la présidence de
notre thèse.*

A MONSIEUR ROBIN

Professeur de Pathologie médicale à l'Ecole d'Alfort

A MONSIEUR LE PROFESSEUR VALLÉE

Membre de l'Académie de Médecine

A MONSIEUR PANISSET

Professeur de Bactériologie à l'Ecole d'Alfort

A MONSIEUR LESBOUYRIÈS

Professeur Agrégé à l'Ecole d'Alfort

A MONSIEUR LE DIRECTEUR
DE L'ÉCOLE D'ALFORT
ET A TOUS MES MAÎTRES
DE CETTE ÉCOLE

A MONSIEUR LE VÉTÉRINAIRE-CAPITAINE URBAIN

Directeur du Laboratoire militaire
de Recherches Vétérinaires

ET A TOUS MES MAÎTRES
DE L'ÉCOLE DE SAUMUR

RECHERCHE DES SENSIBILISATRICES
DANS LE
SÉRUM DES CHIENS
ATTEINTS DE MALADIE
DU JEUNE AGE

PRÉFACE

Dans notre médecine des « Petits animaux », la maladie que nous rencontrons avec la plus grande fréquence, est sans aucun doute la Maladie du Jeune Age du Chien.

Si l'on veut bien examiner la volumineuse littérature technique relatant les importants travaux entrepris sur cette terrible maladie, et si l'on pense que les premières recherches datent seulement du milieu du siècle dernier, on voit à quel point cette affection a préoccupé tous ceux qui, de près ou de loin, s'intéressaient à l'espèce canine.

Cette maladie avait depuis fort longtemps frappé les esprits et attiré l'attention des observateurs ; sa subtile et rapide contagiosité, sa morbidité et sa fréquence, lui avaient fait donner au cours des âges des noms aussi variés qu'expressifs, à savoir : « Peste Canine, « Variole Canine, « Morve Canine », « Gourme du Chien ».

Ce n'est qu'à partir de 1840 que cette maladie fut réellement étudiée, c'était l'époque à laquelle les idées modernes vinrent bouleverser les vieilles conceptions médicales d'autrefois.

Mais déjà l'ère Pasteurienne arrivait, les chercheurs se mirent ardemment au travail pour tenter de découvrir l'agent provocateur de cette maladie, mais, à cette époque, soit par manque de matériel, soit par défaut de cet esprit méthodique que l'on doit avoir pour une science aussi complexe que la Biologie, les travaux avancèrent avec lenteur, et les résultats en furent très variés. Beaucoup trouvèrent des microbes différents, et une foule de noms illustres restés attachés à ces travaux montrent bien que le problème était loin d'être facile à résoudre : tour à tour, diplocoques, streptocoques, Pasteurella, microcoques, bacilles variés, furent rendus responsables d'être les auteurs de cette maladie.

Quant au traitement, les recherches furent poursuivies parallèlement à celles qui étaient conduites sur l'étiologie, tout au début, Jenner lui-même essaya de faire bénéficier les chiens de sa mémorable découverte, mais il dut bientôt s'arrêter devant l'absence totale de résultats. Loïn d'arrêter le mouvement, cet échec eut pour effet d'orienter les recherches vers d'autres voies, on essaya, puisqu'on se croyait en présence d'une flore microbienne parfaitement définie, de trouver une substance chimique capable de se fixer sur ces microorganismes pour en inhiber les effets pathogènes, c'était la *Chimiothé-*

rapie. De nombreux corps furent essayés, la chimie organique, largement mise à contribution, ne répondit pas aux espoirs que l'on avait fondés en elle pour donner le remède spécifique.

Pendant ce temps, la Bactériologie avançait à grands pas, on découvrait, à côté des microbes ordinaires, des agents pathogènes qui jusqu'ici avaient échappé à l'investigation des chercheurs : *les virus filtrables*, et en 1905, Carré mettait en évidence d'une façon magistrale l'étiologie de la Maladie du Jeune Age, et montrait que l'agent causal de la maladie était un virus filtrable.

Sous l'influence de cette découverte, les essais thérapeutiques laissèrent place aux méthodes biologiques modernes, des nombreux vaccins, préparés suivant des modalités différentes, nous ont toujours donné de médiocres résultats ; à l'heure actuelle, ils sont extrêmement variés, leur abondance ne plaide guère en leur faveur, et chaque jour nous en apporte de nouveaux, dont seul l'avenir sanctionnera la valeur.

Devant l'abondance et la variété de cette thérapeutique, nous n'avons pas voulu, comme beaucoup de nos prédécesseurs, suivre cette voie tant rebattue des « essais de traitement » à l'aide de tel ou tel médicament ou spécialité. Si, pour nous, guérir est un idéal que nous sommes toujours tentés d'atteindre, peut-être trop rapidement, car nous sommes des médecins, il n'en reste pas moins vrai qu'avant de découvrir un traitement rationnel d'une maladie, il

importe de connaître parfaitement l'agent qui la provoque. Or, depuis quelques années, la technique biologique a mis au point des procédés nouveaux d'étude des virus, parmi lesquels nous pouvons citer l'un d'eux : « La Réaction de Fixation du Complément », basée sur la recherche des sensibilisatrices spécifiques se trouvant dans le sérum des animaux malades. Cette méthode pour l'étude des virus peut, comme l'a si bien montré M. Ach. Urbain, rendre d'énormes services pour la recherche ou le diagnostic de certaines maladies. C'est en effet grâce à ses travaux sur la réaction de fixation dans la tuberculose que cette méthode de Laboratoire a pu à grand'peine d'ailleurs se frayer passage jusqu'à la clinique, où elle a su rendre d'énormes services dans les défaillances de la tuberculine et tout récemment, au cours de ses derniers travaux sur la réaction de fixation appliquée aux maladies à virus filtrables, il nous a conseillé d'appliquer cette méthode à la maladie du Jeune Age du Chien.

Nous avons donc, suivant ses directives, recherché si le sérum des chiens atteints de la maladie du Jeune Age contenait des sensibilisatrices spécifiques. Tel est le but de ce travail, qui ne nous a pas semblé dépourvu d'intérêt, puisque jusqu'à présent cette méthode n'avait jamais été appliquée à ce virus filtrable.

Dans un rapide historique, nous avons exposé tout ce qui jusqu'ici a été fait sur cette maladie depuis qu'elle a été observée, dans le deuxième

chapitre se trouve le principe de la réaction de fixation et sa technique, enfin dans le troisième chapitre nous en arrivons à l'exposé de nos travaux personnels, entrepris grâce à l'aimable obligeance de MM. les Professeurs Robin et Lesbouyriès, c'est à leur clinique médicale de l'Ecole d'Alfort que nous avons largement puisé pour avoir les cas les plus typiques de maladie du Jeune Age dans ses différentes formes : Respiratoire, digestive ou nerveuse, nous les en remercions bien sincèrement.

Ces recherches ont été effectuées au laboratoire du Professeur Besredka de l'Institut Pasteur, à qui nous adressons l'hommage de notre profond respect.

Toutes nos réactions de fixation ont été contrôlées à l'Institut Pasteur par M. Ach. Urbain, attaché au laboratoire du Professeur Besredka, sa grande expérience, son habileté de technicien et son autorité dans le Monde bactériologique constituent pour nous la plus haute référence et la meilleure garantie, nous sommes heureux de lui apporter ici, en même temps que notre respectueuse sympathie, un témoignage de vive gratitude et de profonde reconnaissance.

HISTORIQUE DE LA MALADIE DU JEUNE AGE DU CHIEN

C'est Aristote qui, le premier, a observé la maladie du Jeune Age du chien. Virgile, dans le 3^e livre des Géorgiques, fait allusion à cette terrible maladie.

Dans le courant de l'histoire, ce n'est qu'après plusieurs siècles que l'on retrouve cette affection chez le chien. En 1387, un manuscrit : *La Chasse*, de Gaston Phoebus Comte de Foix (1), renferme des descriptions et même des traitements de plusieurs maladies des chiens qu'il qualifie de rages, parmi ces descriptions on peut reconnaître les symptômes de la Maladie du Jeune Age sous ses trois formes, nerveuse, digestive et respiratoire.

En 1635, un traité de Vénérerie de Jacques du Fouilloux (2) vint apporter des précisions, on arrive déjà à cette époque à différencier la rage de la Maladie des chiens.

Au XVIII^e siècle, un médecin de Dijon, Fournier,

1. *La chasse* de Gaston Phoebus, Comte de Foix, 1387. Editée par J. Lavallée en 1854, d'après un manuscrit ayant appartenu à Jean 1^{er} de Foix. Biblioth. de l'Ecole de Cavalerie.

2. *La Vénérerie* de Jacques du Fouilloux, 1635. Editée par Pessac en 1864. Biblioth. Ec. de Cavalerie.

lui donne le nom de Fièvre Catarrhale (1744). Deux ans plus tard, Ulloa décrit une maladie éruptive existant en Amérique du Sud. Neusinger prétend, peut-être par analogie avec d'autres maladies, que ce fléau était venu du Pérou en Europe après avoir passé par l'Espagne et la France, qui elle-même aurait contaminé l'Europe Centrale. D'autres auteurs tels que Desmars décrivent la maladie sur les chiens de la meute du Roi. Il faut arriver au xix^e siècle pour avoir les premières études et recherches méthodiques entreprises sur cette maladie.

Les Allemands Prinz et Waldinger admettent la contagion, et, un peu plus tard, Karle et Renner obtiennent la transmission expérimentale, en 1849 Jacquot décrit la maladie et ses nombreuses formes, tandis que Leblanc croit que ces différentes formes représentent des affections différentes. Trastowo, puis Venuta en 1873 parviennent à infecter des animaux avec du virus fixe et du virus volatil provenant du contagement desséché.

Vers 1879, Trasbot et Megnin reprennent la thèse de Jenner, qui après les expériences faites sur la vaccination chez l'homme, avait tenté sans succès sa méthode de vaccination sur les chiens atteints de la maladie. En 1887, des expériences faites par Dupuis viennent détruire la théorie de Trasbot, il montre la réceptivité pour la maladie chez les chiens variolisés et inversement la possibilité d'obtenir l'éruption variolique sur des chiens guéris de la maladie.

Quelque temps auparavant, on avait cependant tenté de découvrir l'agent causal de la maladie. Rabe en 1883 réussissait à isoler un diplocoque, puis des streptocoques, plusieurs auteurs ensuite trouvent des microbes. Mathis isole un diplocoque. Legrain et Jacquot (1) isolent des microcoques. Schantyr (2) trouve que la maladie est déterminée par un bacille voisin du bacille d'Eberth.

En 1900, Lignières établit que la maladie est une Pasteurellose, qui serait déterminée par un certain coccobacille, et en 1901, Copmann soutient cette même thèse après avoir isolé ce même microbe.

Phisalix (3) et Bimes, Seres, Leclainche et Vallée, confirment l'étiologie donnée par Lignières.

C'est en 1905 que Carré (4), après de patientes recherches, prouve qu'on se trouve en présence d'une maladie à virus filtrable ; Lignières (5) pense que la *Pasteurella* et le microbe filtrant peuvent causer des maladies analogues.

D'autres auteurs continuent à découvrir des microbes : Wumschlein, Ferry en 1910, Mac Gorwan

1. Legrain et Jacquot, *Recueil de méd. vét.*, 1890.

2. Schantyr, *Untersuchungen über die Mikroorganismen der Hundestaupe* (*Deutsche Zeitschr. für Tiermed* ; XVIII, 1892, p. 1).

3. Phisalix, *Recherches sur la maladie des chiens. Vaccination du chien contre l'infection expérimentale par le Bacille Spécifique* (Soc. de Biologie, 8 juin 1901).

4. Carré, *Sur la maladie des jeunes chiens* C. R. de l'Ac. des Sciences, 6 mars et 29 mai 1905, 23 avril 1906.

5. Lignières, *Sur la maladie des chiens et le microbe filtrant de Carré* (*Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 15 novembre 1906).

en 1912, étudient un bacille se trouvant dans les sécrétions trachéale et bronchique ; *Bacillus Bronchisepticus*, microbe Gram négatif cultivant sur agar-agar, sur bouillon, ne faisant pas fermenter les sucres et ne liquéfiant pas la gélatine, le sérum de chiens malades agglutinerait les cultures dans la proportion de 1 p. 40 à 1 p. 800.

D'après Torrey les pulvérisations intranasales de cultures de ce germe provoqueraient la maladie, et les animaux guéris de l'infection artificielle se montreraient réfractaires à l'infection naturelle.

En 1912, Babes et Starcovici, puis Maja, ont confirmé la présence, dans l'épithélium des bronches et dans quelques parties du système nerveux de chiens morts de la maladie, des formations endocellulaires découvertes par Sinagaglia.

Mais Carré, depuis la découverte de ce virus filtrant, a répété ses expériences avec les mêmes résultats, et l'on considère à l'heure actuelle que la Maladie du Jeune Age est une septicémie déterminée par un virus filtrable, mettant l'organisme en état de moindre résistance, et qui favorise le développement de streptocoques, staphylocoques, colibacilles, paratyphiques et autres microbes, hôtes normaux de l'intestin du chien, que l'on prenait à tort pour des agents spécifiques, et qui ne sont que des « microbes de sortie ».

CHAPITRE PREMIER

PRINCIPE DE LA RÉACTION DE FIXATION

Toute substance étrangère à un organisme : cellule, microbe, ferment soluble, toxine, etc... renferme, en proportions variables, certains constituants protéiques, de nature colloïdale, provoquant chez les animaux auxquels ils sont injectés une réaction de défense qui se traduit par la formation de substances antagonistes spécifiques, auxquelles on donne le nom d'*anticorps*, ce qui explique le nom d'*antigènes* donné par Detre Deutsch à ces substances étrangères.

Ces anticorps, ainsi formés dans l'organisme animal, n'ont jamais pu être définis chimiquement et n'ont pu être mis en évidence que par certaines réactions qu'ils sont capables de provoquer : réactions agglutinantes, floculantes, précipitantes, neutralisantes ou lytiques, si bien que d'après ces réactions on a pu les classer en :

anticorps des cellules....	{ agglutinines lysines
anticorps des humeurs...	{ précipitines sensibilisatrices
anticorps de toxines.....	: antitoxines.

parmi ces anticorps, ceux qui retiendront ici notre attention sont les *sensibilisatrices* de Bordet.

Signalons en passant que ces anticorps sont quelquefois capables de transmettre l'immunité : par exemple, les antitoxines microbiennes et les anticorps de quelques maladies, mais la plupart des anticorps n'ont pas la propriété de conférer l'immunité, ce ne sont, comme l'a dit le Professeur Calmette que des *témoins de l'infection*.

Les premières recherches sur ces questions remontent à Fodor (1), en 1886, qui avait signalé l'action bactéricide du sang ; puis Nuttall (2) en 1888, continue ces expériences et constate que les bactéries en dehors de l'action des phagocytes subissent une altération de la part des liquides de l'organisme. Buchner (3) reprend les travaux de Nuttall et montre que le sang chauffé pendant 1 heure à 55° perd toute action. Pour lui, il existerait donc dans le sang une substance possédant des propriétés bactéricides marquées ; il lui a donné le nom d'*alexine*.

Puis, en 1894, Pfeiffer (4), dans une expérience

1. Fodor, *Bakterien im Blute lebender Tiere* (Archiv. für Hygiene, IV, 1886, p. 129); *Neuere Untersuchungen über die bakterien tödtende Wirkung des Blutes und über Immunisation* (Centralbl. für Bakt., VII, 1890, p. 753).

2. Nuttall, *Experimente über die bakterien feindlichen Einfluss der tierischen Körpers* (Zeitschr. für Hygiens, IV, 1888, p. 353).

3. Büchner, *Experimente der die bakterien feindlichen Einfluss*, 1891, p. 437.

4. Pfeiffer, *Weitere Untersuchungen über das Wesen der choleraimmunität und über specifisch baktericide Processe* (Zeitschrift für Hygiens, XVIII, 1894, P. I.) (*Zur differenzial diagnose der Vibrionen der Cholera asiatica mit Hilfe der Immunisierung* *ibid*, XIX, 1895, p. 759).

devenue classique, montre le pouvoir bactéricide des humeurs : si on injecte une culture de vibrions cholériques dans le péritoine d'un cobaye préalablement immunisé contre le choléra, les microbes deviennent rapidement immobiles, puis se transforment en petites masses arrondies, granuleuses, s'agglutinent et finissent par disparaître dans le milieu ambiant.

Ce phénomène peut d'ailleurs se reproduire également *in vitro*, comme l'ont montré Metchnikoff (1) et Bordet (2), grâce à l'action d'une substance lytique. Cette substance, appelée alexine, semble être un facteur normal du sang et des humeurs que l'organisme élabore d'une façon régulière : elle n'a pas de spécificité et seule ne peut exercer son action bactéricide. Ehrlich lui donne le nom de complément, car il lui faut pour agir le secours d'une substance indispensable appelée *sensibilisatrice*, ce n'est que par la présence de cette dernière que l'alexine peut, suivant les cas, donner lieu aux phénomènes de bactériolysè, cytolyse, hémolyse.

Cette substance a une action mal expliquée : pour Bordet (3), elle serait analogue aux mordants em-

1. Metchnikoff, *Etudes sur l'immunité, sur la destruction extracellulaire des Bactéries* (Ann. de l'Inst. Pasteur, IX, 1895, p. 433).

2. Bordet, *Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez es vaccinés* (Ann. de l'Inst. Pasteur, IX, 1895, p. 462); *Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques* (Ibid., XIV, 1900, p. 257).

3. Bordet et Gengou, *Sur l'existence des substances sensibilisa*

ployés dans la teinture, par elle le microbe serait « rendu sensible à l'action de l'alexine » qui se fixe sur lui et peut exercer son effet : d'où le nom de *sensibilisatrice* qu'il lui donne. Pour Ehrlich (1), l'action serait plus complexe, cette substance, la sensibilisatrice de Bordet, servirait de trait d'union entre le microbe et l'alexine, permettant à cette dernière d'agir sur le microbe, alors que si elle n'existait pas, l'alexine resterait libre dans le milieu sans effet sur le microbe. Il lui propose les noms d'*ambocepteur*, *corps intermédiaire*, ou *immunkörper*. La sensibilisatrice est une substance spécifique produite par réaction de l'organisme contre un anticorps déterminé, elle est thermostable, car elle résiste à la chaleur jusqu'à 70°. On peut donc facilement séparer l'alexine des sensibilisatrices par chauffage, puisque cette dernière est détruite à 55°.

La présence d'une sensibilisatrice dans un sérum ou liquide organique quelconque indique que ce sérum, ou ce liquide, se sont trouvés au contact de l'antigène correspondant. On voit que de ce principe il est possible de tirer de précieux renseignements pour la diagnose des virus.

Bordet et Gengou ont démontré que les antigènes, influencés par la sensibilisatrice qui leur corres-

trices dans la plupart des sérums antimicrobiens (Ibid., XV, 1901, p. 289).

1. Ehrlich et Morgenroth, *Über Hæmolysine (Berl Klin. Wochenschr., 1901, n°s 21-22).*

pond, ont le pouvoir d'absorber, de retenir, de fixer l'alexine contenue dans un sérum mis en contact avec eux, c'est la *réaction de fixation de Bordet et Gengou*. La réaction que l'on choisit pour déceler la présence de l'alexine est une réaction d'hémolyse, car elle est facile à apprécier, alors qu'une bactériolyse ne peut se constater qu'au microscope.

Voici le principe de la réaction :

On prend un système bactériolytique : un antigène et son anticorps homologue, cet anticorps est représenté par le sérum d'un animal malade ou immunisé. On chauffe ce sérum à 55° pour faire disparaître l'alexine, ce sérum ne contient donc que la sensibilisatrice, on ajoute de l'alexine en quantité déterminée (représentée par du sérum frais de cobaye).

Ce système bactériolytique est mis pendant une heure à l'étuve à 37°, au bout de ce temps on lui ajoute un mélange d'hématies lavées et de sérum hémolytique inactivé à 55° (donc privé d'alexine).

Deux cas peuvent se produire :

1° Le système bactériolytique contient une sensibilisatrice, celle-ci se fixe sur l'antigène pour permettre à l'alexine d'agir sur lui et d'effectuer sa bactériolyse. C'est le système hémolytique qui va nous servir de témoin coloré, puisque le complément a été dévié du système bactériolytique, il ne pourra agir sur les globules rouges et il n'y aura donc pas d'hémolyse : *on dit que la réaction est positive* ;

2° Le système bactériolytique ne contient pas de

sensibilisatrice, l'alexine sera libre et pourra se fixer sur le complexe globules rouges + système hémolytique inactivé, l'hémolyse se produira : *on dit que la réaction est négative.*

CHAPITRE II

PRÉPARATION DES ÉLÉMENTS DE LA RÉACTION DE FIXATION

Pour faire une réaction de fixation, il faut :

- 1° Une émulsion d'hématies lavées ;
- 2° Un sérum hémolytique ;
- 3° Une alexine ;
- 4° Le sérum à étudier ;
- 5° L'antigène.

Nous allons étudier séparément ces différents éléments de la réaction.

1° Préparation de l'émulsion d'hématies lavées.

Ce sont les hématies de mouton que l'on emploie le plus généralement pour la réaction de fixation.

On recueille aussi aseptiquement que possible du sang de mouton que l'on défibrine en l'agitant dans un ballon contenant des billes de verre, jusqu'à ce que la fibrine soit complètement séparée. Les hématies et le sérum surnagent alors, il ne reste plus qu'à les laver de façon à éliminer toute trace de sérum. On place ce sang dans les tubes d'une centrifugeuse,

chacun est rempli jusqu'aux $\frac{2}{3}$, on centrifuge. Les hématies sont précipitées et le sérum se trouve en surface, il suffit maintenant de décanter le sérum et de remplir le tube avec de l'eau physiologique à 9 0/00 jusqu'au niveau primitif. On agite les hématies pour bien les laver, on centrifuge à nouveau et on décante cette eau physiologique, que l'on remplace jusqu'au niveau primitif, pour centrifuger encore. Lorsque l'opération a été répétée ainsi 2 à 3 fois après avoir toujours complété au niveau primitif, l'émulsion d'hématies est prête pour l'emploi.

On l'emploie à 5 % pour la réaction de fixation. Ces hématies peuvent se conserver sans subir d'altération pendant 8 à 10 jours à la glacière.

Armand Delille et Launoy (1) ont montré que le meilleur procédé de conservation consiste à ajouter aux hématies, après lavage, du formol du commerce dans la proportion de 1/500, les hématies se conserveraient ainsi pendant trois semaines à la glacière.

2° Le sérum hémolytique.

La qualité du sérum hémolytique employé pour la réaction doit être envisagée au point de vue de sa richesse en éléments spécifiques. Ce sont surtout des sensibilisatrices que l'on cherche à obtenir,

1. Armand Delille et Launoy, *Stabilisation des hématies par des doses minima de formol* (C. R. de la Soc. de Biologie, 2 juillet 1910, p. 40).

alors que les agglutinines sont peu intéressantes ; il nous faut donc un sérum riche en sensibilisatrices et ayant une faible teneur en agglutinines, il faut aussi que le sérum ne soit pas naturellement hémolytique pour les hématies de mouton.

Pour obtenir ces sérums hémolytiques, on s'est adressé au lapin et au cheval, qui sont les animaux remplissant le mieux toutes ces conditions.

Préparation d'un sérum hémolytique chez le cheval. — Quand on fait des expériences en série, il est nécessaire d'avoir à sa disposition de grandes quantités de sérums hémolytiques, c'est pourquoi il est préférable de s'adresser au cheval. Voici la méthode employée par M. Urbain (1) pour sa préparation :

Le cheval reçoit sous la peau de l'encolure, une première fois 20 cc. de globules de mouton, et ensuite, tous les 7 jours, 12 cc. de ces globules. C'est environ au bout de 10 semaines que l'on obtient un sérum actif ; 7 jours après la dernière injection le cheval est saigné, on lui prend environ 6 litres de sang. Après cette saignée, il reçoit une dernière fois 15 cc. de globules de mouton sous la peau ; puis il est saigné 8 jours après. A peu de chose près, le pouvoir hémolytique des deux sérums est identique. On conserve ce sérum en ampoules scellées, chauffées à 60° pendant 30 minutes 2, jours de suite.

1. Ach. Urbain, *La réaction de fixation dans la Tuberculose*. Masson, éditeur, Paris, 1925.

Gaucher, en 1926, a découvert un procédé de conservation du sérum hémolytique. Il le dessèche dans une étuve traversée par un courant d'air sec stérile à 45°. La dessiccation se produit rapidement, et on a un sérum en poudre ou en écaille qui est stabilisé et peut être gardé pendant assez longtemps à la température du laboratoire.

Titrage du sérum hémolytique

Nos des tubes	Emulsion de globules à 5 0/0	Sérum hémolytique dilué à 1 p. 100	Alexine diluée à 1 p. 10	Eau physiologique à 9 p. 1.000	Résultats au bout de 30 minutes à l'étuve à 37°
	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	
1	1	0,1	0,5	1,4	Pas d'hémolyse
2	1	0,2	0,5	1,3	—
3	1	0,3	0,5	1,2	—
4	1	0,4	0,5	1,1	—
5	1	0,5	0,5	1	Hémolyse
6	1	0,6	0,5	0,9	—
7	1	0,7	0,5	0,8	—
8	1	0,8	0,5	0,7	—
9	1	0,9	0,5	0,6	—
10	1	1	0,5	0,5	—
T. S. H.	1	1		1	Pas d'hémolyse
T. Al.	1		0,5	0,5	—

(D'après Ach. Urbain, *La Réaction de fixation dans la Tuberculose*.)

Titrage du sérum hémolytique suivant la méthode de Calmette et Massol. — On prépare une dilution à 1 % du sérum à examiner : à 99 cc. d'eau physiologique à 9 ‰ on ajoute 1 cc. de ce sérum.

On prend 10 tubes à réaction, on verse successivement 0 cc. 1, 0 cc. 2, jusqu'à 1 cc. de cette dilution, à chacun d'eux, on ajoute une quantité d'ale-

xine en excès, par exemple 0 cc. 5 d'une dilution au 1/10 de sérum frais de cobaye et 1 cc. d'une émulsion de globules de mouton au 1/20. On remplit ensuite tous les tubes avec de l'eau physiologique jusqu'au volume de 3 cc., on agite les tubes, puis on met le tout à l'étuve à 37° pendant une demi-heure.

Si l'hémolyse commence à se produire dans le tube contenant 0 cc. 5 de sérum hémolytique dilué, et si elle se produit également partout où le sérum est en plus grande quantité, on dit que ce sérum hémolyse à la dose de 0 cc. 005 en présence de 0 cc. 05 d'alexine de cobaye.

D'après Calmette et Massol, il faut employer dans les réactions des doses de sérum hémolytique comprises entre 10 à 20 fois la dose minimum hémolysante. Grâce à l'excès de sérum hémolytique, la plus petite trace d'alexine manifesterait sa présence, par une action dissolvante sur les globules sensibilisés.

Le sérum hémolytique, une fois titré, peut être conservé à l'abri de la lumière et de la chaleur pendant plusieurs mois. Il suffit de le titrer de temps en temps, pour voir si son pouvoir hémolytique ne baisse pas trop rapidement.

3° L'alexine.

La meilleure alexine est fournie par le sérum frais de cobaye. On recueille le sang le plus aseptiquement possible ; comme c'est un produit qui doit

être employé frais, sa préparation se fait quelque temps avant la réaction.

Massol et Grysez (1) ont montré que l'alexine baisse rapidement quand elle est conservée à la glacière à 4°, et lorsqu'on l'étend au vingtième de son volume primitif, son pouvoir baisse de moitié en une heure.

Plusieurs auteurs ont essayé de conserver l'alexine. Massol et Nowaczinski (2) ont trouvé un excellent procédé de conservation : il suffit d'additionner le sérum frais de cobaye de 1/10 de son volume d'eau saturée de chlorure de sodium (36 gr. par litre). Il suffit alors au moment de l'emploi de ramener le sérum à son taux normal de chlorure de sodium, 9 gr. par litre. Par cette méthode les propriétés de l'alexine seraient intactes au bout de 15 jours.

Massol obtient d'excellents résultats en conservant l'alexine à basse température, — 10 à — 15°.

A l'état congelé l'alexine conserverait son activité pendant plusieurs semaines, environ 3 ou 5.

Titrage de l'alexine. — Le titrage de l'alexine se fait toujours par le procédé de Calmette et Massol, comme précédemment pour le sérum hémolytique (voir tableau) (3).

1. Massol et Grysez, *Influence du vieillissement et de la dessiccation sur la conservation de l'alexine du sérum de cobaye*. (C. R. Soc. de Biologie, 14 mai 1910, p. 825).

2. Massol et Nowaczinski, *Conservation et filtration de l'alexine du sérum de cobaye*. (C. R. de la Soc. de Biologie, t. LXIX, 19 novembre 1910, p. 431).

3. Urbain, *loc. cit.*

Titration de l'alexine

Nos des tubes	Alexine diluée à 1 p. 100	Emulsion de globules de mouton à 5/100	Sérum hémolytique 20 doses minima	Eau physiologique à 9 p. 1000	Résultats au bout de 30 minutes à l'étuve à 37°
	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	
1	0,1	1	0,1	1,8	Pas d'hémolyse
2	0,2	1	0,1	1,7	—
3	0,3	1	0,1	1,6	—
4	0,4	1	0,1	1,5	—
5	0,5	1	0,1	1,4	Hémolyse
6	0,6	1	0,1	1,3	—
7	0,7	1	0,1	1,2	—
8	0,8	1	0,1	1,1	—
9	0,9	1	0,1	1	—
10	1	1	0,1	0,9	—
T. S. H.	»	1	0,1	1,9	Pas d'hémolyse
T. Al.	1	1		1	—

Le sérum de cobaye est dilué au 1/100 dans de l'eau physiologique à 9 ‰. On prend 12 tubes à réaction, 10 tubes pour le titrage, un témoin sérum, et un témoin alexine ; dans chacun des tubes on introduit des doses croissantes d'alexine allant de 0 cc. 1 à 1 cc. puis 1 cc. d'une émulsion de globules de mouton à 5 ‰, 0 cc. 1 de sérum hémolytique, et on complète chaque tube à 3 cc. avec de l'eau physiologique. On place le tout à l'étuve à 37° et on lit les résultats au bout de 30 minutes.

L'hémolyse se produit du tube n° 5 au tube n° 10. La dose d'alexine non fixée est indiquée par le premier tube de la série où l'on constate l'hémolyse. On prendra une dose double de celle-ci comme dose minimum dans les expériences de fixation. L'hémo-

lyse s'est manifestée dans le tube contenant 0.005 d'alexine, on prend pour la réaction de fixation le double de cette dose minimum, soit 0 cc.1 de la dilution au 1/10, car Massol et Grysez ont montré que l'alexine diluée perd la moitié de son titre lorsqu'elle est employée une heure après son titrage.

4° Sérum à étudier.

Le sang des animaux malades est prélevé, soit à la veine jugulaire, soit à la saphène externe, soit par ponction au cœur. De toute façon il faut éviter de prélever le sang pendant la digestion.

Les méthodes que nous avons employées le plus volontiers chez le jeune chien sont la ponction au cœur gauche et la ponction à la saphène externe.

Nous avons employé avec succès la technique décrite par Muret (1) dans sa thèse.

Ponction au cœur gauche. — Le poumon gauche laisse à découvert la partie ventrale du cœur de la 4^e à la 8^e côte.

Technique : On se sert d'une aiguille de 6 à 8 cm. de longueur et d'une seringue ordinaire.

On cherche le lieu d'élection, puis on ponctionne la peau et les muscles intercostaux. Pour trouver ce lieu d'élection, l'animal étant debout, on se base principalement sur le choc précordial très facile à percevoir à la main, puis on repère le 6^e espace

1. Muret, *Ponction du cœur chez le chien*. Thèse Vét., Paris, 1926.

intercostal situé à une distance d'environ deux doigts de l'appendice xyphoïde du sternum.

1^{er} temps : On enfonce l'aiguille de la main droite perpendiculairement aux muscles intercostaux à 1 cm. du bord gauche du sternum.

2^e temps : Ponction du cœur, on inclinera la pointe de l'aiguille en avant d'environ 40° avec la paroi costale, on sent alors les battements du cœur au bout de l'aiguille, à ce moment on enfonce brusquement l'aiguille dans la paroi ventriculaire et l'on tombe dans la cavité ventriculaire gauche, on peut alors facilement recueillir le sang avec une seringue stérile.

Ce sang est placé au laboratoire et, quelques heures plus tard, le caillot laisse exsuder le sérum, que l'on transvase à l'aide d'une pipette stérile. On chauffe ce sérum pendant 30 minutes à 60°, au lieu de 55° pour les sérums humains, nécessaires à la réaction de fixation, pour faire disparaître les substances anticomplémentaires que l'on trouve toujours en grande quantité dans les sérums de chiens.

Le sérum peut être ainsi conservé stérilement pendant plusieurs semaines au laboratoire, sans risque de voir diminuer le taux des anticorps.

Le sérum ainsi préparé peut être employé pour la réaction de fixation.

5° L'antigène

Les qualités d'un antigène dépendent :

1° De sa sensibilité, c'est-à-dire de sa faculté de déceler les plus petites traces des sensibilisatrices contenues dans les sérums à étudier ;

2° De sa fixité et de son inaltérabilité : il devrait pouvoir se conserver indéfiniment ;

3° De sa spécificité, c'est-à-dire de cette propriété de ne fixer l'alexine qu'en présence des anticorps qu'il produit.

Préparation de l'antigène. — Kraus et Michalska (1), pour la recherche des anticorps vaccinaux chez les lapins immunisés contre la vaccine, ont employé des extraits de cerveaux de lapins morts d'encéphalite vaccinale. Poursuivant leurs travaux, ils ont montré que pour déceler les sensibilisatrices chez des lapins morts de rage, il suffisait de faire un antigène avec un cerveau de lapin mort de la rage.

Voici comment ils préparent cet antigène : ils conservent dans de la glycérine un cerveau de lapin mort de rage. Ce cerveau est trituré dans un mortier, puis il est étendu de 10 fois son volume d'eau physiologique. Il est chauffé à 100° pendant une demi-heure, abandonné à la glacière après

1. Kraus et Michalska. *Die diagnose des Lyssavirus mittels komplementablenkung mit Koktoimmunogen und Glycerinextrakt.* (Zeit. f. Immunitätsf., t. XLVII, p. 504.)

centrifugation. On prend le liquide opalescent qui surnage : c'est l'antigène qui est employé à la dose de 0,01 à 0,005, il est rigoureusement spécifique.

D'après Kraus et Takaki (1), ce serait une méthode de choix pour la préparation des antigènes en vue d'identifier ou de différencier les virus filtrants neurotropes. Partant de ces données, nous avons employé un antigène à peu près semblable à celui de Kraus et, par cette méthode, MM. Wollman et Urbain (2) ont pu tout dernièrement mettre en évidence à un taux très élevé, des sensibilisatrices chez les cobayes hyperimmunisés contre le sarcome infectieux de la Poule, la vaccine et l'herpès.

Voici comment nous avons opéré :

Il faut tout d'abord se procurer des cerveaux de chiens morts de la maladie et autant que possible de la forme nerveuse méningo-myélite ou méningo-encéphalite ; on peut garder l'activité de ce cerveau en le mettant à la température du laboratoire dans de la glycérine neutre. Le cerveau est trituré dans un mortier avec un peu de sable stérile, on ajoute goutte à goutte de l'eau physiologique à 9 p. 1.000, quand l'émulsion est parfaitement homogène on la porte au bain-marie à 100° pendant une demi-heure.

1. Kraus et Takaki, *Der Nachweis der neurotrophen. Virusarten mittels Komplement ablenkung mit Koktoantigenen* Wiener Klinischer Wochenschrift, 27, mai 1926, p. 624.

2. Wollman et Urbain, *C. R. de l'Ac. des Sc.*, 1927, t. LXXXIII, p. 1682 et t. CLXXXIV, p. 1210. *C. R. de la Soc. Biol.*, 1928, t. XCIX, p. 477-480.

On la place ensuite à la glace pendant 24 heures puis on centrifuge l'émulsion. Les particules de substances nerveuses, le sable stérile et les matières albuminoïdes coagulées se précipitent, tandis que surnage un liquide opalescent qui est l'antigène. On l'emploie pour la réaction à la dose de 0 cc. 3.

Au cours de nos recherches, nous avons également employé, comme antigène, le liquide céphalo-rachidien de chien atteint de méningo-encéphalite. Cet antigène, recueilli par ponction lombaire, est chauffé au bain-marie à 100° pendant 30 minutes. Certaines matières albuminoïdes précipitent on les sépare par centrifugation, et le liquide ainsi employé pour la réaction a été révélé comme un excellent antigène. Le liquide céphalo-rachidien peut également s'employer comme antigène sans avoir été chauffé au préalable, mais de cette façon il a été toujours montré comme étant un antigène, ayant une valeur bien inférieure à celui obtenu par la méthode précédente.

Titrage de l'antigène. — Le titrage de l'antigène se fait par une méthode analogue à celles vues précédemment pour le titrage de l'alexine et du sérum hémolytique.

Il y a deux méthodes : la méthode des doses croissantes d'alexine et la méthode des doses croissantes d'antigène. Nous ne mentionnerons ici que la première méthode : on opère avec une série de 16 tubes : 10 tubes à réaction, 3 tubes témoins d'alexine, 3 tubes témoins sérums.

Titrage de l'antigène par la méthode des doses croissantes d'alexine

Nos des tubes	Une heure d'étuve à 37° I				II Globules sensibi- lisés	Résultats après 30 minutes d'étuve à 37°
	Sérum type chauffé	Antigène dilué au 1/20°	Alexine diluée au 1/10°	Eau physiol. 9 0/00		
	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	
1	0,5	1	0,1	0,9	1	Pas d'hém.
2	0,5	1	0,2	0,8	1	—
3	0,5	1	0,3	0,7	1	Hémolyse
4	0,5	1	0,4	0,6	1	—
5	0,5	1	0,5	0,5	1	—
6	0,5	1	0,6	0,4	1	—
7	0,5	1	0,7	0,3	1	—
8	0,5	1	0,8	0,2	1	—
9	0,5	1	0,9	0,1	1	Hémolyse
10	0,5	1	1	0	1	—
Sér. 1	0,5	1	0,1		1	Hémolyse
Sér. 2	0,5		0,2		1	—
Sér. 3	0,5		0,3		1	—
A. 1		1	0,1		1	Hémolyse
Al. 2		1	0,2		1	—
Al. 3		1	0,3		1	—

Dans chacun des 10 tubes on place une quantité fixe d'antigène à titrer : 1 cc. dilué à 1 %. On ajoute à chaque tube 0 cc. 5 d'un sérum fixe type, puis en partant des nos 1 jusqu'à 10, on introduit dans les tubes une quantité d'alexine diluée au 1/10, variant de 0 cc. 1 à 1 cc. Les tubes témoins sérums n'ont pas d'antigène et reçoivent des doses croissantes d'alexine au 1/10 : 0 cc. 1, 0 cc. 2, 0 cc. 3.

De même, les témoins alexine reçoivent de l'alexine : 0 cc. 1, 0 cc. 2, 0 cc. 3, mais ne reçoivent pas de sérum type. On complète le niveau de tous les tubes à 2 cc. 5 avec de l'eau physiologique.

Tous ces tubes sont portés à l'étuve à 37°. Au bout d'une heure, on ajoute dans chaque tube 1 cc. de globules de mouton stérilisés et on reporte les tubes à l'étuve après les avoir secoués. C'est après une demi-heure d'étuve que l'on interprète les résultats.

Dans le cas du tableau (1), nous constatons que la réaction marche pour une quantité d'alexine égale à 0 cc. 2 (pas d'hémolyse). Nous disons alors qu'un volume d'antigène égal à 0 cc. 01 dévie 2 doses minima d'alexine.

Soit N le nombre de doses d'alexine que peut dévier le volume V d'antigène, $\frac{V}{N}$ donne le titre de l'antigène en unités d'alexine fixée.

L'antigène utilisé dont 0 cc. 01 dévie 2 doses minima d'alexine a pour valeur $\frac{2}{0,01} = 200$. L'unité de volume de cet antigène dévie 200 unités d'alexine.

1. Ach. Urbain, *loc. cit.*

CHAPITRE III

TECHNIQUE DE LA RÉACTION

1^o Méthode de Calmette et Massol.

On prend trois séries de tubes, la première comprend 6 tubes. On y met d'abord le sérum à examiner, 0 cc. 5 et une quantité fixe d'antigène, 1 cc., une deuxième série de tubes, témoins sérums, ne reçoivent que 0 cc. 5 de sérum, la troisième série, témoins antigènes, reçoit seulement l'antigène à la même dose que précédemment, soit 1 cc.

Dans chaque tube de ces trois séries, on ajoute des doses croissantes d'alexine, depuis la dose active minimum, en augmentant de 1/10 cc. à chaque fois. On complète au volume total de 2 cc. 5 avec de l'eau physiologique, et on porte le tout à l'étuve à 37° pendant une heure. Au bout de ce temps, on introduit dans chaque tube 1 goutte de l'émulsion de globules de mouton et le sérum hémolytique chauffé (sérum titré au préalable). On reporte les tubes à l'étuve à 37°, et au bout d'une demi-heure on interprète les résultats. On ne tient compte que des tubes dans lesquels l'hémolyse est totale.

Disposition de la réaction suivant la méthode de Calmette et Massol

Nos des tubes	Une heure d'étuve à 37° I				Une demi-heure d'étuve à 37° II	
	Sérum inactive à 43° 30 minutes	Antigène dilué au 1/20	Alexine diluée à 1/15	Eau physiologique	Emulsion de globules de mouton	Sérum hémolytique chauffé
	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.
1	0,3	1	0,1	1,1	1	0,1
2	0,3	1	0,2	1	1	0,1
3	0,3	1	0,3	0,9	1	0,1
4	0,3	1	0,4	0,8	1	0,1
5	0,3	1	0,5	0,7	1	0,1
Témoins sérum						
1	0,3		0,1	2,1	1	0,1
2	0,3		0,2	2	1	0,1
3	0,3		0,3	1,9	1	0,1
Témoins antigènes						
1		1	0,1	1,4	1	0,1
2		1	0,2	1,3	1	0,1
3		1	0,3	1,2	1	0,1

(D'après Ach. Urbain, *La réaction de fixation dans la Tuberculose.*)

2° Méthode de Besredka.

Elle n'est qu'un légère variante de la réaction de Calmette et Massol. Dans cette méthode, c'est pendant que les tubes sont à l'étuve que l'on procède au titrage du sérum hémolytique et que l'on prépare le système hémolytique.

On prend quatre séries de tubes. La première série de 6 tubes est celle qui sert pour la réaction. Dans chaque tube on introduit 0 cc. 2 de sérum à étudier et une quantité fixe d'antigène, soit 0 cc. 3.

Réaction de fixation

Nos des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Tubes d'expériences						Tubes témoins sérum				Tubes témoins antigène				Tubes témoins alexine		
Antigène	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0	0	0	0,3	0,3	0,3	0,3	0	0	0	0
Sérum à examiner inactivé 30 m. à 55°	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
Alexine diluée à 1/20 ^e	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	0,4	0,5
Eau physiologique à 9‰	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0	0,8	0,7	0,6	0,7	0,6	0,5	0,4	1	0,9	0,8	0,7

Étuve à 37° pendant une heure

Laisser à la température du Laboratoire pendant une heure.

Emulsion de globules de mouton à 5 0/0 sensibilisée 20 minutes avant l'emploi.....	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.
--	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Porter à l'étuve à 37° pendant une demi-heure.

La deuxième série de tubes en contient 4. Ce sont les tubes témoins sérums : ils reçoivent la même quantité de sérum à étudier, 0 cc. 2, mais pas d'antigène. La troisième série, 4 tubes, sont les témoins antigènes, ils reçoivent chacun la même quantité d'antigène que les sérums à examiner, mais pas de sérum. Quant à la quatrième série de tubes, les témoins alexine, ils ne contiennent que l'alexine diluée.

Dans tous ces tubes on ajoute de l'alexine au 1/20 en doses croissantes : le premier tube de chaque série recevant 0 cc. 2, etc...

On ramène le volume total de chaque tube à 1 cc. 2 avec de l'eau physiologique à 9 ‰.

On agite les tubes, on les porte à l'étuve à 37°.

Titrage du sérum hémolytique et préparation du système hémolytique. — Pendant que les tubes sont à l'étuve, on en profite pour faire le titrage du système hémolytique et faire la préparation du système hémolytique.

Voici comment on opère :

Supposons que nous connaissions à peu de chose près le taux du sérum hémolytique, par exemple 1 ‰ à 2 ‰.

On prend quatre tubes à essai A, B, C, D, et dans chaque tube on fait une dilution à 0,5 ‰, à 1 ‰, 1,5 ‰, 2 ‰. Pour cela les tubes reçoivent respectivement une quantité de sérum hémolytique égale à 0 cc. 05, 0 cc. 1, 1 cc. 5, et 2 cc. On ajoute dans chaque tube 0 cc. 5 de l'émulsion d'hématies lavées

et on complète à 9 cc. 5 d'eau physiologique dans chaque tube. On agite les tubes pour rendre leur contenu bien homogène. On les laisse pendant quelques minutes au laboratoire pour que les hématies aient eu le temps d'être bien au contact du sérum hémolytique et ainsi de se sensibiliser.

Titrage du sérum hémolytique

TABLEAU I

	Tube A	Tube B	Tube C	Tube D
Taux du sérum hémolytique dans l'émulsion de globules ..	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %
Hématies lavées	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.
Eau physiologique à 9 ‰	9,5 cc.	9,5 cc.	9,5 cc.	0,5 cc.
Sérum hémolytique .	0,05 cc.	0,1 cc.	0,15 cc.	0,2 cc.

TABLEAU II

N ^{os} des tubes .	1	2	3	4	5	6	7	8
	Emulsion des globules sensibilisés du tube A		Emulsion des globules sensibilisés du tube B		Emulsion des globules sensibilisés du tube C		Emulsion des globules sensibilisés du tube D	
Hématies sensibilisées	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.
Alexine diluée au 1/20 ^e	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3
Antigène	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Eau physiologique	0,7	0,6	0,7	0,6	0,7	0,6	0,7	0,6

Porter à l'étuve à 37° une demi-heure.

Dès que nous sommes en possession de notre système hémolytique à des taux différents, il faut rechercher quel est le taux qui conviendra à la réaction. On répartit alors ces hématies sensibilisées dans 4 séries de deux tubes, contenant respectivement 0 cc. 2 et 0 cc. 3 d'alexine diluée au 1/20, et de l'antigène 0 cc. 3, puis on complète le niveau de ces 8 tubes à 1 cc. 2. On place tous ces tubes à l'étuve à 37°, et on lit les résultats au bout d'une demi-heure. On regarde alors dans quels tubes l'hémolyse se produit. Supposons que l'hémolyse se produise d'une façon totale à partir du tube 3, ceci veut dire que l'émulsion de globules de mouton sensibilisés par le sérum hémolytique à 1 % est capable d'être hémolysée par la dose limite d'alexine de 0 cc. 2. On emploiera donc pour la réaction l'émulsion de globules à 1 %. Puisque c'est à ce taux que le sérum hémolytique a le mieux sensibilisé les globules de mouton en présence de l'alexine, il suffit d'en préparer une quantité suffisante pour tous les tubes qui sont à l'étuve. Si nous avons, par exemple, 50 tubes à réaction, et que nous mettons 1 cc. par tube de cette émulsion d'hématies sensibilisées, nous préparons notre émulsion de globules sensibilisés de la façon suivante :

- 47 cc. 5 d'eau physiologique ;
- 2 cc. 5 d'hématies lavées ;
- 0 cc. 5 de sérums hémolytiques.

Cette émulsion est laissée pendant 10 à 20 mi-

nutes à la température du laboratoire après avoir été bien secouée, puis elle est répartie dans les tubes à essai.

On reporte les tubes à l'étuve à 37° pendant une demi-heure, puis on lit les résultats.

Il faut pour cela comparer les tubes de la 1^{re} série, 1 à 6, aux tubes témoins.

Si on n'obtient pas d'hémolyse dans quelques tubes témoins, il faut en tenir compte et annuler les résultats pour autant de tubes de la réaction, il faut tenir compte aussi du défaut d'hémolyse qui pourrait arriver dans une des séries témoin antigène ou témoin alexine. Une réaction est donc positive lorsque les tubes considérés ne sont pas hémolysés, et il faut que la quantité d'alexine fixée par le système bactériolytique soit supérieure à celle déviée par les volumes d'antigène et d'anticorps déviés séparément.

CHAPITRE IV

TRAVAUX PERSONNELS

Recherches des sensibilisatrices dans le sérum des chiens atteints de la maladie du jeune âge.

Avant de rechercher les sensibilisatrices dans le sérum des chiens atteints de maladie du jeune âge, nous avons fait tout d'abord quelques expériences sur la spécificité des antigènes utilisés et de la réaction elle-même.

Etude de la spécificité de l'antigène. — Ayant préparé un antigène suivant la méthode de Kraus, méthode que nous avons indiquée au chapitre précédent, nous l'avons étudié vis-à-vis de sérums de chiens tuberculeux dont la richesse en anticorps avait été déterminée à l'avance par des réactions de fixation. Nous avons fait 4 réactions de fixation et nous avons toujours obtenu des résultats négatifs.

Réaction A. — Chien race commune, âgé de 3 ans 1/2, atteint d'ascite tuberculeuse.

Le sérum examiné vis-à-vis de l'antigène tuberculeux donne une réaction nettement positive, 10 unités d'anticorps fixées.

Vis-à-vis de l'antigène du jeune âge : réaction négative.

Réaction B. — Chien Fox, 2 ans, atteint de pleurésie tuberculeuse. Réaction sérologique vis-à-vis de l'antigène tuberculeux nettement positive. 25 unités d'anticorps. J. A. Réaction nettement négative.

Réaction C. — Berger Allemand, âgé de 8 ans, à tuberculose rénale, ayant donné à l'antigène tuberculeux une forte réaction de fixation (plus de 50 unités d'anticorps fixées), la réaction est négative en présence de l'antigène du Jeune Age.

Réaction D. — Berger Allemand, 10 ans, mis en observation pour amaigrissement rapide. Son sérum donne une réaction positive à l'antigène tuberculeux, et négative à l'antigène J. A.

* * *

Il fallait faire l'expérience inverse pour être sûr que notre antigène était spécifique, c'est-à-dire voir comment se comportent les anticorps du Jeune Age vis-à-vis de l'antigène tuberculeux.

Réaction E. — Chien Berger Allemand âgé d'environ 18 mois, atteint de broncho-pneumonie ; au moment du prélèvement du sang, température : 39°8. Vis-à-vis de l'antigène à l'œuf de Besredka, réaction négative.

Réaction F. — Chienne Setter Laverack, 13 mois, atteinte de la forme nerveuse : chorée du membre antérieur droit.

A l'antigène tuberculeux, réaction négative.

Réaction G. — Chien Loulou, 18 mois. Jeune Age forme nerveuse : myélite dorso-lombaire. Réaction négative en présence d'un antigène tuberculeux.

D'ailleurs une autre réaction, la réaction n° 9 que nous verrons un peu plus loin, est venue confirmer ces expériences. Il s'agissait d'un chien tuberculeux vacciné au B. C. G. dont le sérum avait fourni une réaction légèrement positive à l'antigène tuberculeux. Vis-à-vis de l'antigène du Jeune Age, nous avons obtenu une réaction positive : après une rapide enquête, nous nous sommes aperçu que le chien en question était âgé de 14 mois et présentait tous les symptômes de maladie forme, respiratoire, température, jetage, et commencement de broncho-pneumonie (Voir observation n° 9).

Recherche des sensibilisatrices chez les chiens malades.

*A) Essai de l'antigène du Jeune Age vis-à-vis
du sérum de chiens atteints de la forme nerveuse.*

Nous avons prélevé le sang d'animaux malades à différents stades de la maladie. Ces animaux étaient atteints de paraplégie, d'autres de chorée, et quel-

ques-uns de méningo-myélite et méningo-encéphalite.

Voici les expériences et résultats obtenus :

Réaction n° 1. — Chien Berger Allemand, âgé de 8 mois, atteint du Jeune Age, forme nerveuse, méningo-encéphalite. La prise de sang a été faite au 2^e jour de son entrée à l'école d'Alfort, soit environ 6 jours après le début de la maladie et 24 heures après une injection intraveineuse d'uroformine de 1 gr.

Réaction légèrement positive : 5 unités d'anticorps fixées.

Réaction n° 2. — 24 heures après cette première prise de sang, nous en avons fait une seconde. La réaction s'est révélée beaucoup plus fortement positive. 20 unités d'anticorps, et ceci avec le même antigène.

Réaction n° 3. — Chien Berger Allemand, 15 mois, atteint de la forme nerveuse après avoir guéri de la forme respiratoire. L'animal avait subi un traitement à base d'uroformine par la voie buccale. Réaction fortement positive — 50 unités d'anticorps.

Ce même sérum a été essayé vis-à-vis du liquide céphalo-rachidien comme antigène et a donné une réaction positive un peu plus forte, nous en reparlerons plus loin.

Réaction n° 4. — Chien Fox, 10 mois, entré le 4 novembre 1927 à l'Ecole, présentant une méningo-encéphalite incurable, est sacrifié sur la demande de son propriétaire. L'animal reçoit 10 cmc. d'une solution de strychnine à saturation

par ponction intracardiaque, aussitôt après la mort le sang est recueilli, et le sérum vis-à-vis de l'antigène à base de substance nerveuse donne une réaction de fixation négative.

Réaction n° 5. — Chien Malinois, âgé de 3 mois, entré à l'Ecole le 16 novembre 1927. Ponction faite 8 jours après son entrée.

La broncho-pneumonie paraît évoluer d'une façon favorable, la température de l'animal a baissé à 38°5, alors que dans les 8 jours précédents elle atteignait 39°5, cependant l'animal commence à être paralysé du train postérieur, et cette paralysie remonte lentement vers l'encéphale.

Réaction de fixation positive — 10 unités. Vis-à-vis du liquide céphalo-rachidien. Réaction positive 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 6. — C'est un cas analogue au précédent, avec cette différence que la prise de sang a été faite pendant la période préagonique, l'animal présentait alors une méningo-encéphalite à laquelle il succomba quelques heures après le prélèvement de sang au cœur gauche. Réaction négative.

Réaction n° 7. — Chien croisement Berger Allemand, race commune, 14 mois, présentant un début de broncho-pneumonie et une myélite dorso-lombaire et un peu d'encéphalite, l'animal n'a pas une forte température au moment de la prise de sang : 38°7.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 10. — Chien Berger Allemand, âgé de 1 an, présentant les deux formes : nerveuse et respiratoire (bron-

cho-pneumonie, avec température 39°5). L'animal ne paraît pas devoir guérir rapidement.

Réaction positive : plus de 30 unités d'anticorps.

Réaction n° 11. — Chien Berger Allemand, Malinois.

Forme nerveuse : paraplégie et méningo-encéphalite. L'animal est très gravement malade et ne présentant plus de chance de guérison, il est abattu sur la demande du propriétaire par injection de sulfate de strychnine à saturation en injection intracardiaque. Pour vérifier les résultats déjà obtenus au n° 4, nous faisons des prélèvements avant et après l'abatage.

Sérum prélevé avant l'abatage : faiblement positif.

Sérum prélevé après l'abatage : réaction négative.

Réaction n° 12. — Chien Berger Allemand Groenendaël, atteint de chorée du membre postérieur gauche. L'animal a été soigné dans les hôpitaux d'Alfort par le traitement classique. Uroformine en intra-veineuses et l'arseniate de strychnine à faibles doses. Après ce traitement, l'examen sérologique nous a révélé une forte teneur en anticorps. Réaction positive — 20 unités d'anticorps.

Réaction n° 13. — Chien Berger Allemand, 15 mois, entré le 26 novembre 1927 à l'Ecole pour broncho-pneumonie, l'animal est guéri de la forme respiratoire de la maladie, mais le 5 décembre il commence à être paralysé du train postérieur, paralysie qui gagne rapidement l'encéphale. Pendant l'agonie, nous prélevons quelques centimètres cubes de sang au cœur gauche. Le sérum donne une réaction de fixation négative.

Réaction n° 14. — Chien Fox à poil dur. L'animal est en bonne voie de guérison d'une paralysie au moment où nous prélevons du sang, mais il a encore de la chorée du membre postérieur droit.

Réaction fortement positive — 50 unités d'anticorps.

Réaction n° 15. — Berger Briard, 2 ans, forme nerveuse, ponction faite à peu près au milieu de la maladie.

Réaction très légèrement positive — 5 unités d'anticorps.

Réaction n° 16. — Chien race commune, 12 mois.

Broncho-pneumonie et paraplégie, fièvre peu forte, 38°7. Chien présentant une légère amélioration.

Réaction positive — 25 unités d'anticorps.

Réaction n° 17. — Chien berger ordinaire, atteint de paraplégie.

Réaction positive, plus de 15 unités.

Réaction n° 18. — Chien Fox, 8 mois, guéri de la forme digestive, contracte une broncho-pneumonie suivie dans son évolution d'une méningo-myélite, la ponction est faite pendant que l'animal est atteint d'encéphalite. Le chien meurt le lendemain.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 19. — Chien Berger Allemand, 15 mois, atteint de paraplégie.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 20. — Chienne Berger Allemand, 12 mois,

maladie du Jeune Age, paraplégie, prélèvement au cours de la maladie.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 21. — Chienne Griffon Cortals, âgée de 13 mois, en voie de guérison. La prise de sang a été faite pendant la période de convalescence.

Réaction positive — 20 unités d'anticorps.

Réaction n° 22. — Chien race commune, âgée d'environ 15 mois, myélite suraiguë. Ponction faite au cours de la maladie.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

*B) Essai de l'antigène du Jeune Age vis-à-vis du sérum
de chiens atteints de la forme respiratoire.*

Réaction n° 8. — Chienne race commune, âgée de 22 mois, atteinte de broncho-pneumonie, prise de sang faite le 29 novembre, température 40°.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 9. — Chien race commune, présentant un commencement de broncho-pneumonie, servant à des expériences faites sur le B. C. G. Son sérum a donné vis-à-vis de l'antigène tuberculeux une réaction légèrement positive. Vis-à-vis de l'antigène du Jeune Age, réaction très légèrement positive — 5 unités d'anticorps.

Réaction n° 23. — Chienne Berger Belge, âgée de 14 mois, atteinte de broncho-pneumonie, température 39°4.

Réaction positive — 15 unités d'anticorps.

Réaction n° 24. — Chienne Fox, âgée de 7 mois, atteinte de broncho-pneumonie, température 40° à la prise de sang.
Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 25. — Chien Bas-Rouge, âgé de 18 mois, atteint de Jeune Age forme digestive, diarrhée et broncho-pneumonie, température 39° 7.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 26. — Chien croisement Berger Allemand race commune, broncho-pneumonie, température 39° 9, sans tendance à guérison rapide.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 27. — Chien Setter noir et feu, température 40°, pendant les débuts de la maladie, au 4^e jour, prise de sang. Atteint de broncho-pneumonie.

Réaction positive — 15 unités d'Anticorps.

Réaction n° 28. — Chien race commune, Broncho-pneumonie, température 39° 8 au moment de la prise de sang.

Réaction positive faible — 5 unités d'anticorps.

Réaction n° 29. — Chien croisement Fox race ordinaire, forme digestive et broncho-pneumonie.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 30. — Chien race ordinaire, à broncho-pneumonie et diarrhée, prise de sang faite vers la fin de la maladie, tendant vers la guérison.

Réaction positive — 10 unités d'anticorps.

Réaction n° 31. — Chien Malinois, âgé d'environ 18 mois, gravement atteint de Broncho-pneumonie. Température 40° 2.

Réaction légèrement positive — 5 unités d'anticorps.

Réaction n° 32. — Sérum du n° 16. Chien à formes nerveuse et respiratoire, examiné vis-à-vis d'un antigène préparé avec de la lymphe vaccinale.

Réaction négative,

Réaction n° 33. — Sérum du n° 26. Chien atteint de broncho-pneumonie, examiné vis-à-vis d'un antigène préparé avec des croûtes de zona.

Réaction négative.

Réaction n° 34. — Sérum de Chien Berger Malinois, forme nerveuse, paraplégie, examiné vis-à-vis d'un antigène fait avec un cerveau de lapin normal.

Réaction négative.

Réaction n° 34 bis. — Sérum du n° 34, examiné vis-à-vis d'un antigène préparé avec un cerveau de lapin atteint d'herpès, méthode de Kraus.

Réaction négative.

Réaction n° 36. — Sérum de chien Berger Allemand, atteint de broncho-pneumonie, température 39° 8 au moment de la ponction, examiné vis-à-vis d'un antigène fait avec un cerveau de lapin rabique, toujours préparé suivant la méthode de Kraus.

Réaction négative.

Réaction n° 37. — Sérum de Chien : Griffon atteint de la forme nerveuse : paraplégie. Examiné vis-à-vis de l'antigène rabique utilisé à la réaction n° 36.

Réaction négative.

CHAPITRE V

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Toutes ces expériences, faites à l'Institut Pasteur, au Laboratoire du professeur Besredka et sous le contrôle de M. Ach. Urbain qui nous a guidé dans nos recherches, nous ont permis d'observer comment se présentaient les sensibilisatrices dans le sérum des chiens atteints de la maladie du jeune âge.

Nous étudierons les différents antigènes qu'il est possible d'utiliser, puis nous indiquerons comment se trouvent les sensibilisatrices aux différents stades de la maladie, leur teneur dans le sérum, enfin, dans le dernier chapitre, nous exposerons pourquoi nous nous permettons d'affirmer la spécificité de la réaction.

1^o Etude de l'antigène.

L'antigène que nous avons utilisé le plus souvent pour la recherche des sensibilisatrices a été fabriqué, suivant la méthode de Kraus, à partir de cerveaux de chiens morts de la maladie, et plus particulièrement de la forme nerveuse (voir chap. « Pré-

paration de l'antigène »); cet antigène s'est révélé excellent pour la réaction, cependant nous en avons utilisé un autre à trois reprises différentes : le liquide céphalo-rachidien de chiens atteints de la forme nerveuse, nous avons obtenu aussi des résultats positifs, légèrement supérieurs à ceux que donnait l'antigène ordinaire (Réactions 3, 5, 14). Nous aurions parfaitement pu l'utiliser pour toutes les réactions, mais il est souvent impossible de se procurer du liquide céphalo-rachidien en quantité suffisante pour les réactions — difficultés de technique mises à part — bien souvent nous n'avons pu obtenir que deux gouttes de ce liquide.

Poussant plus loin les recherches, nous nous sommes demandé s'il était nécessaire de prendre un cerveau de chien mort de la forme nerveuse pour préparer l'antigène; nous en avons donc fabriqué un à l'aide d'un cerveau de chien malade, atteint simplement d'un commencement de broncho-pneumonie et sacrifié au début de sa maladie. Il s'agissait d'étudier le sérum d'un jeune chien âgé de 7 à 8 mois, relevant de maladie, mais ayant conservé de la chorée du diaphragme. Avec ce sérum, nous avons fait 3 réactions : la première, avec un antigène type, était positive (10 unités d'anticorps), la deuxième, avec cet antigène, nous a donné un résultat un peu inférieur au précédent, ce qui prouverait que ce virus neurotrope se fixe rapidement dès le début de la maladie sur les centres nerveux des animaux, les mettant ainsi en état de moindre résistance vis-

à-vis des nombreux microbes de sortie. Enfin un 3^e antigène était constitué simplement par le vaccin préparé par M. Lebailly, à base d'émulsion de rates formolées ; nous avons eu ainsi un résultat positif, beaucoup plus faible qu'avec les deux premiers antigènes ; le formol apporte en effet une gêne à la réaction de fixation ; si nous tenons compte de cette propriété du formol, nous pouvons dire que ce vaccin se comporte comme un bon antigène par rapport à l'antigène type.

Ce vaccin formolé serait donc excellent pour faire de l'antigénothérapie, mais la formation d'anticorps dans un organisme animal ne lui confère pas toujours l'immunité.

L'antigène du jeune âge est spécifique, c'est d'ailleurs une des plus grandes qualités que l'on puisse demander à un antigène.

En effet, vis-à-vis de sérums de chiens sains, l'antigène du jeune âge ne donne aucune réaction.

Vis-à-vis de sérums tuberculeux, nous n'avons pas non plus de réaction (Voir Réactions E. F. G.).

Vis-à-vis d'un sérum de chien tuberculisé et atteint de maladie du jeune âge (broncho-pneumonie), nous avons eu une réaction positive. Les anticorps étrangers ne troublent donc pas la réaction.

2^o Recherche des sensibilisatrices.

Nous avons fait 33 réactions avec des sérums de chiens malades ; sur ce nombre nous avons 22 sérums pour la forme nerveuse, et 11 pour les formes respiratoire et digestive.

Toutes ces réactions se sont montrées positives, sauf dans deux cas bien particuliers (Réactions 6 et 13), elles ont été obtenues avec des sérums de chiens dont le sang avait été prélevé pendant la période agonique ; nous pouvons dire que la réaction marche dans 94 des cas.

Ces réactions sont difficiles à interpréter, aussi bien pour la forme nerveuse que pour la forme respiratoire. Si nous examinons les résultats quantitatifs de ces expériences, fixations positives traduites en unités d'anticorps, nous remarquons que la réaction n'a jamais été fortement positive. La moyenne générale obtenue est de 15 unités d'anticorps ; dans l'ensemble ce sont des réactions positives moyennes, nous n'avons obtenu que 4 à 5 réactions positives fortes : dépassant 15 unités.

Pour les formes respiratoire et digestive, la moyenne obtenue est encore plus faible et atteint à peine 10 unités ; ce sont des réactions positives faibles.

Nous avons obtenu des réactions positives fortes chez des animaux atteints à la fois des formes nerveuse et respiratoire. Est-ce une simple coïncidence,

nous ne pouvons le savoir, nos résultats ne sont pas assez nombreux, il aurait fallu, pour avoir le droit d'être plus affirmatif, avoir fait des expériences en très grandes séries.

Néanmoins, en présence de ces résultats, nous avons le droit de dire qu'il existe réellement des sensibilisatrices dans le sérum des chiens atteints de maladie du jeune âge.

3° Variation du taux des anticorps.

Le taux des anticorps est essentiellement variable suivant les individus et les formes de la maladie, ce qui rend là aussi les observations difficiles. Voici globalement ce que nous avons pu remarquer :

Les sérums prélevés au début de la maladie, et ceci quelle qu'en soit la forme, nous ont donné des réactions positives moyennes. Sur les animaux dont la maladie était en pleine évolution, nous avons eu des réactions tantôt fortes, tantôt faibles, suivant les sujets étudiés, de sorte qu'il n'est pas possible d'établir une relation entre l'intensité de l'infection et la richesse du sérum en anticorps.

Au cours du traitement, nous avons pu prélever des sérums et nous avons constaté au début une faible teneur en anticorps, qui augmente fortement surtout après l'administration d'antiseptiques généraux tels que formol et ses dérivés : uroformine, etc.

A la fin de la maladie, pendant la période de con-

valescence, nous avons toujours obtenu des réactions fortes (plus de 15 unités d'anticorps).

Nous signalerons également l'absence totale d'anticorps à la fin de la maladie, pendant la période agonique, nous avons aussi enregistré deux réactions négatives dans ce sens, et il est intéressant de rapprocher ce phénomène de celui que le professeur Besredka a constaté chez le lapin et le cobaye tuberculeux, dans le sérum desquels les anticorps ont totalement disparu pendant les derniers jours qui précèdent la mort.

Le sulfate de strychnine à saturation, employé pour sacrifier les animaux, apporte un trouble à la réaction ; la réaction est négative lorsqu'on emploie le sérum d'un chien dont le sang a été prélevé quelques minutes après l'abatage par ce procédé.

Si nous nous en reportons à la réaction 11, nous y trouvons deux expériences pleinement démonstratives : il s'agissait d'un chien gravement malade, arrivé dans une période de cachexie très avancée. Comme contrôle, nous avons fait une prise de sang avant la mort, qui nous donna un résultat très faiblement positif, montrant l'abaissement du taux des anticorps ; le sang recueilli après l'abatage nous a donné une réaction totalement négative.

Si nous obtenons ainsi une réaction négative avec le sérum du chien sacrifié dans ces conditions, le cerveau peut néanmoins servir encore à la fabrication d'un antigène pouvant être utilisé pour d'autres réactions.

4^o Spécificité de la réaction. Sa valeur.

Nous avons fait de nombreuses expériences pour voir si les sensibilisatrices du jeune âge ne fixaient pas le complément en présence d'antigènes étrangers ; tous ces antigènes ont été préparés suivant des méthodes voisines de celle de Kraus.

Au début de nos travaux, nous avons fait des antigènes avec des cerveaux de chiens sains, ces antigènes, en présence de sérums d'animaux sains ou malades, ne nous ont donné que des réactions négatives.

Nous avons ensuite employé comme antigènes des cerveaux de lapins normaux, et de lapins atteints d'herpès, avec toujours un antigène type comme contrôle, mais là encore nous n'avons enregistré que des réactions négatives.

Des macérations de croûtes de zona, des émulsions de lymphé vaccinale, nous ont toujours donné des résultats négatifs.

Enfin, les dernières expériences que nous ayons faites ont porté sur deux chiens malades, l'un de la forme respiratoire, l'autre de la forme nerveuse, méningo-encéphalite. Nous avons employé un antigène rabique, préparé toujours suivant la méthode de Kraus avec un cerveau de lapin. Les deux réactions ont été négatives.

Nous pouvons donc affirmer que la réaction est

parfaitement spécifique, et nous pensons que les cliniciens pourraient, une fois de plus, tirer parti de cette excellente méthode pour lever des doutes ou confirmer un diagnostic.

CONCLUSIONS

1. Il existe des sensibilisatrices ou anticorps dans le sérum des chiens atteints de maladie du jeune âge, nous avons pu les mettre en évidence par la réaction de fixation du complément : méthode de Calmette et Massol.

2. Dans cette maladie à virus filtrable (du groupe des ectodermoses neurotropes de Levaditi), nous avons employé un antigène fabriqué à base d'émulsion de cerveau de chien mort de la maladie, suivant la méthode de Kraus.

3. La réaction est spécifique. En effet :

a) Le sérum des chiens malades ne donne aucune réaction vis-à-vis d'un antigène préparé avec un cerveau normal.

b) Le sérum des chiens malades ne donne aucune réaction :

1° Vis-à-vis d'un antigène tuberculeux (antigène à l'œuf de Besredka);

2° Vis-à-vis d'un antigène rabique ;

3° Vis-à-vis d'un antigène herpétique ;

4^o Vis-à-vis d'un antigène préparé avec des croûtes de zona ;

5^o Vis-à-vis d'un antigène préparé avec de la lymphe vaccinale ;

6^o Vis-à-vis d'un antigène préparé avec un cerveau de chien normal.

4. Nous n'avons trouvé aucune relation entre la forme évolutive de la maladie et la richesse d'un sérum en anticorps.

Il nous a semblé constater à la période de convalescence une teneur en anticorps légèrement supérieure à ce qu'elle est au cours de l'évolution.

L'injection ou l'administration de substances antiseptiques générales, telles que formol et ses dérivés, semble augmenter le taux des anticorps contenus dans le sérum des animaux.

Tout au début de la forme digestive ou respiratoire, si l'on sacrifie les animaux, on constate que leurs cerveaux peuvent au même titre que les cerveaux de chiens morts de la forme nerveuse, servir pour la fabrication d'antigènes, la réaction est simplement moins forte.

A la fin de la maladie, pendant la période préagorique, les anticorps ont totalement disparu du sang.

5. Chez les animaux sacrifiés par le sulfate de strychnine à saturation, et auxquels le sang a été prélevé *post-mortem*, il est impossible de mettre

des sensibilisatrices en évidence, le sulfate de strychnine apporterait un trouble à la réaction.

6. La réaction de fixation du complément dans la maladie du jeune âge pourrait, dans certains cas cliniques suspects, être un excellent moyen de diagnostic.

Vu : *Le Président de la thèse,*
LEMIERRE

Vu : *Le Doyen,*
ROGER

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY

BIBLIOGRAPHIE

Armand Delille et Launoy. — Stabilisation des hématies par des doses minima de formol (C. R. de la Soc. de Biologie, 2 juillet 1910, p. 40).

Bordet. — Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés (Ann. de l'Inst. Pasteur, IX, 1895, p. 462).

— Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques (Ann. de l'Inst. Pasteur, XIV, 1900, p. 257).

Bordet et Gengou. — Sur l'existence des substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens (Ann. de l'Inst. Pasteur, XV, 1901, p. 289).

Carré. — Sur la maladie du Jeune âge des chiens (C. R. de l'Académie des sciences, 6 mars et 29 mai 1905, 23 avril 1906).

Ehrlich et Morgenroth. — Über Hæmolysine (Berl Klin. Wochenschr, nos 21-22, 1901).

Fodor. — Bakterien im Blute lebender Tiere (Archiv für Hygiene, IV, 1886, p. 129).

— Neüre untersùchungen über die Bakterien tödtende Wirkung des Blutes und über Immunisation (Centralblatt für Bakter, VI, 1890, p. 753).

Gousartchuk et Bullier (P.). — Recherche des sensibilisatrices dans le sérum des chiens atteints de maladie du Jeune âge. (C.R. Soc. Biologie, 1928, n° 26, p. 780).

Legrain et Jacquot. — Recueil de médecine vétérinaire, 1890.

Lignières. — Sur la maladie des chiens et le microbe filtrant de Carré (Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire, 15 nov. 1906).

Massol et Grysez. — Influence du vieillissement et de la dessiccation sur la conservation de l'alexine du sérum de cobaye (C.R. de la soc. de Biologie, 14 mai 1910).

Massol et Nowaczinski. — Conservation et filtration de l'alexine du sérum de cobaye (C.R. de soc. de Biologie, t. LXIX, 19 nov. 1910, p. 43).

Metchnikoff. — Etudes sur l'immunité, sur la destruction extracellulaire des Bactéries (Ann. de l'Inst. Pasteur, IX, 1895, p. 433).

Muret. — Ponction du cœur chez le chien. Thèse Vét., Paris, 1926.

Nuttall. — Experimente über die Bakterien feindlichen Einfluss der tierischen Körpers. (Zeitschr für Hygiene, IV, 1888, p. 353).

Kraus et Michalska. — Die Diagnose des Lyssavirus mittels Komplementablenkung mit Koktoimmunogen und glyzerinextrakt (Zeit f. Immunitätsft., t. XXXXVII, 1925, p. 504).

Kraus und Takaki. — Der Nachweis der neurotrophen Virusarten mittels Komplementablenkung mit Koktoantigenen (Wiener Klinischer Wochenschrift, 27 mai 1926, p. 624).

— Zur Aetiologie der post-vakzinalen Encephalitis (Med. Klinik, 1925, n° 50, p. 1858).

Pfeiffer. — Weitere Untersuchungen über das Wesen der Cholera-immunität und über spezifisch baktericide Prozesse (Zeitschrift für Hygiene, XVIII, 1894, p. 1).

— Zur differenzialdiagnose der Vibrionen der Cholera asiatica mit Hilfe der Immunisierung (Ibid., XIX, 1895, p. 759).

Phisalix. — Recherches sur la maladie des chiens. Vaccination du chien contre l'infection expérimentale par le bacille spécifique (Soc. de Biologie, 8 juin 1901).

Pineau. — Thèse Vét., Paris, 1925.

Schantyr. — Untersuchungen über die Mikroorganismen des Hundestaube (Deutsche Zeitschr für Thiermed, XVII 1892, p. 1).

Urbain (Ach.). — La réaction de fixation dans la Tuberculose (Masson et Cie, Editeurs, Paris, 1925).

— La réaction de fixation appliquée au diagnostic de certaines maladies microbiennes ou parasitaires communes à l'homme et aux animaux. Thèse Vét., Paris, 1927.

Wollman et Urbain. — C.R. de l'Académie des Sc., 1927, t. LXXXIII, p. 1682, et t. CLXXXIV, p. 1210 ; C.R. soc. Biologie, 1928, t. XCIX, p. 477-480.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
PRÉFACE.....	7
Historique de la maladie du Jeune âge.....	12
CHAPITRE PREMIER. — Principe de la réaction de fixation.	16
CHAPITRE II. — Préparation des éléments de la Réaction de fixation.....	22
1° L'émulsion d'hématies lavées.....	22
2° Le sérum hémolytique, son titrage.....	23
3° L'Alexine, son titrage.....	26
4° Le sérum à étudier, sa préparation.....	29
5° L'antigène, son titrage.....	31
CHAPITRE III. — Technique de la réaction.....	36
CHAPITRE IV. — Travaux personnels.....	43
CHAPITRE V. — Interprétation des résultats.....	54
Etude de l'Antigène.....	54
Recherche des sensibilisatrices.....	57
Variation du taux des anticorps.....	58
Spécificité de la réaction, sa valeur.....	60
CONCLUSIONS.....	62
BIBLIOGRAPHIE.....	65



